

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ ПАССИВНОГО ИММУНИТЕТА ЛИСТА СМОРОДИНЫ ЧЕРНОЙ (*RIBES NIGRUM L.*) В СЕЛЕКЦИИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К МУЧНИСТОЙ РОСЕ

А.Г. ЧЕРНЕЦКАЯ, Т.В. КАЛЕНЧУК

*Полесский государственный университет
г. Пинск, Республика Беларусь, chrysanthemum@list.ru*

Проблема иммунитета растений к инфекционным заболеваниям является фитопатологической проблемой, так как её задачей является устранение массовых заболеваний растений – эпифитотий. Изучение иммунитета проводится в различных направлениях – агротехническом, биохимическом, физиологическом, генетическом, селекционном.

В настоящее время накоплены многочисленные экспериментальные данные, характеризующие защитные реакции растений при различных заболеваниях. Попытки отдельных исследователей обобщить полученные результаты и на этой основе создать общую теорию иммунитета растений ещё не увенчались успехом. Это объясняется многообразием паразитарных организмов и растений, характеризующихся на разных этапах развития инфекции разнообразными механизмами взаимоотношений.

Выделяют типы (категории) иммунитета Категорий врожденного (естественного) иммунитета две: пассивный – иммунитет, связанный с конституционными свойствами растений; активный – иммунитет, индуцированный патогенами (Деверол, Б.Д., 1980).

Огромное число патогенов не способно преодолеть механизмы пассивного иммунитета, обусловленные анатомо–морфологическими особенностями растений. К факторам, повышающим устойчивость к заболеваниям, относятся: общий габитус растения, структура поверхности, строение покровных тканей, ритм работы устьиц, анатомические особенности растений.

К структурным элементам поверхности, которые играют существенную роль в защите от инфицирования растений, относятся:

- ✓ особенности воска и кутикулы, покрывающие эпидермальные клетки;
- ✓ структура стенок эпидермальных клеток;
- ✓ форма, ритм работы и количество устьиц и чечевичек.

В структурно–функциональном взаимодействии патогенных грибов с растениями можно выделить два последовательных этапа. На первом этапе грибы проникают в ткани растений и распознают клетки хозяина, на втором – устанавливают с ним паразитические отношения и поддерживают их (Bonfig, G., 2011).

Сравнение этих этапов позволило выявить значительное структурное и функциональное сходство, особенно в период прохождения биотрофными грибными патогенами первого этапа взаимодействия. У грибов это сходство проявляется на стадии дифференциации инфекционных структур (аппрессория, инфекционного выроста и инфекционного пузырька).

При мучнисторосяной инфекции проникновение гриба *Sphaerotheca mors-uvae* в клетку хозяина осуществляется непосредственно через наружную стенку эпидермальных клеток растений. При этом гаустории формируются только в эпидермальном слое растения. Ключевым моментом в онтогенезе является образование инфекционного пузырька, который у возбудителя мучнистой росы дифференцируется в гаусторий, обеспечивающий ему биотрофный способ питания в эпидермальной клетке.

Инфекционный пузырек эктофитного биотрофа *Sphaerotheca mors-uvae* локализуется в эпидермальной клетке хозяина – смородине, затем трансформируется в гаусторий – структурное образование, с помощью которого гриб использует растение не только в качестве среды обитания, но и как источник питания, посредством которого он регулирует свои отношения с этой внешней (растительной) средой. Процесс формирования гаусториев связан с изменением функции инфекционного пузырька.

У *Sphaerotheca mors-uvae* он включает прямую трансформацию кончика аппрессориального выроста в гаусторий. Конидии прорастают на поверхности эпидермиса вначале очень короткой ростковой трубкой (1–5 мкм), а через несколько часов – более длинной, вторичной трубкой, которая спустя 10–15 ч формирует аппрессорий.

Инфекционные выросты проникают прямо в эпидермальную стенку либо в устьичную щель, затем расширяются в небольшой грушевидный инфекционный пузырек, а затем приобретает лопастную форму с характерными пальцевидными выростами, которые никогда не выходят за пределы экстрагаусторального матрикса и экстрагаусторальной мембраны. Функциональное назначение инфекционного пузырька состоит в том, чтобы установить постоянные стабильные связи с растением–хозяином и сохранить его клетки живыми в течение всего онтогенеза. Поэтому отношения между партнерами данной фитопатосистемы носят обязательный (облигатный) характер. Образование инфекционного гаусторального пузырька в клетке эпидермиса вполне достаточно, чтобы длительное время поддерживать в состоянии равновесия паразитические отношения между организмами в системе смородина–возбудитель мучнистой росы (Яковлева, Р.С., 1973; Dorfelt, H., 1989).

Для изучения влияния значений морфо–анатомических признаков листа на устойчивость к мучнистой росе был проведен однофакторный дисперсионный анализ. Группирующей (независимой) переменной была степень устойчивости растений смородины черной к американской мучнистой росе. Изученные образцы смородины черной были разделены на три группы в зависимости от степени их устойчивости: относительно устойчивые (Церера, Памяти Вавилова) – 1 группа, среднепоражаемые и слабопоражаемые (Купалинка, Катюша, Клуссоновская, Волшебница) – 2 группа, сильнопоражаемый (Минай Шмырев) – 3 группа.

Зависимыми переменными были признаки морфо–анатомической структуры листа смородины черной, которые можно использовать в качестве диагностических на устойчивость к мучнистой росе, то есть с незначительной и средней степенью изменчивости.

По результатам исследований такими признаками являются: длина и ширина замыкающих клеток устьиц нижнего эпидермиса, коэффициент полисадности, число основных клеток и устьиц нижнего эпидермиса на единицу площади, высота клеток (толщина) верхнего и нижнего эпидермиса, толщина столбчатого и губчатого мезофилла.

Не рассматривались у образцов смородины черной признаки со значительным коэффициентом вариации: количество трихом на единицу площади и их длина, глубина извилин оболочек эпидермальных клеток, ширина проводящих пучков.

Изучение отношения того или иного признака к болезнеустойчивости осуществлялось в трех возрастных стадиях растений смородины черной: одного года, четырех лет, восьми лет. В ходе анализа была изучена связь устойчивости растений смородины черной к мучнистой росе с 16 признаками морфо–анатомической структуры листа в трех возрастных фазах (48 зависимых переменных по каждому сорту).

Достаточно постоянными показателями листа смородины черной во все возрастные периоды являются: площадь эпидермальных клеток, длина и ширина замыкающих клеток устьиц, ширина устьичной щели, толщина верхнего эпидермиса.

Далее были проведены апостериорные сравнения средних для того, чтобы оценить значимость различий между средними конкретными групп.

Таким образом, определились 4 показателя, средние значения которых, во–первых, в относительно устойчивой и среднепоражаемой группах значимо отличаются друг от друга; во–вторых, среднепоражаемая группа занимает или промежуточное положение между двумя другими, или недостоверно отличается от одной из них.

Толщина нижнего эпидермиса у относительно устойчивых образцов достоверно больше, чем у среднепоражаемых и сильнопоражаемых, и в среднем составляет 1,09 мкм. Толщина нижнего эпидермиса у среднепоражаемых 0,89 мкм, у сильнопоражаемых 0,61 мкм.

Длина и ширина замыкающих клеток устьиц на нижнем эпидермисе иммунной группы (1,84 мкм и 0,42 мкм соответственно) также значимо превышает длину и ширину замыкающих клеток устьиц у среднепоражаемых – 2,20 мкм и 0,52 мкм, у сильнопоражаемых – 2,42 мкм и 0,61 мкм.

Таким образом, устойчивость растений смородины черной к мучнистой росе связана с морфо–анатомической структурой листа.

К признакам, влияющим на устойчивость, по результатам однофакторного дисперсионного анализа, относятся: толщина нижнего эпидермиса и размеры устьиц.

Выявлено, что относительно устойчивые образцы обладают большей толщиной клеток нижнего эпидермиса. Размеры устьиц и устьичной щели на нижнем эпидермисе у сильнопоражаемых образцов больше, чем у устойчивых (Чернецкая, А.Г., 2005).

Влияние морфо–анатомической структуры листа смородины черной на устойчивость растений к мучнистой росе выявлено, главным образом, у однолетних растений. Однако связь устойчивости с некоторыми морфо–анатомическими признаками строения листа смородины черной определяется и в более позднем возрасте, в том числе у сортообразцов четырехлетнего возраста.

Для установления зависимости устойчивости к американской мучнистой росе от особенностей анатомической структуры листа был проведен корреляционный анализ. Была изучена связь между устойчивостью смородины черной к мучнистой росе и всеми изученными морфо–анатомическими признаками листа смородины черной.

Установлено, что, начиная с растений однолетнего возраста до растений восьми лет, начинает выделяться группа признаков, коррелирующих с устойчивостью к мучнистой росе: толщина нижнего эпидермиса (у однолетних растений коэффициент корреляции равен $-0,94$; у четырехлетних – $-0,97$; у восьмилетних – $-0,98$) и размеры устьиц (длина и ширина замыкающих клеток устьиц, ширина устьичной щели) (у однолетних растений коэффициенты корреляции соответственно равны $0,96$, $0,92$ и $0,95$; у четырехлетних – $0,91$, $0,88$ и $0,90$; у восьмилетних – $0,96$, $0,97$ и $0,98$). Мы отмечаем также, что связь между толщиной нижнего эпидермиса, с одной стороны, и развитием болезни, с другой, носит отрицательный характер (обратную корреляцию). А связь между размерами устьиц и развитием болезни – положительна (прямая корреляция) (Чернецкая, А.Г., 2005).

Таким образом, корреляционный анализ подтверждает наличие связи между устойчивостью растений смородины черной к мучнистой росе и морфо–анатомической структурой листа. В ходе корреляционного анализа выявлена линейная отрицательная зависимость между развитием болезни и толщиной клеток нижнего эпидермиса и линейная положительная зависимость между развитием болезни и размерами устьиц (длиной и шириной) и шириной устьичной щели на нижнем эпидермисе.

На основании проведенных исследований разработан метод диагностики сортов смородины черной на устойчивость к мучнистой росе.

Метод позволяет определить устойчивость того или иного сорта за один вегетационный период в полевых условиях при отсутствии возбудителя болезни и условий, необходимых для искусственного заражения.

Метод основан на использовании некоторых анатомических структур листа в качестве диагностических признаков при оценке на устойчивость к мучнистой росе (таблица).

К группе относительно устойчивых к мучнистой росе (развитие болезни до 10%) относятся сорта смородины черной с длиной устьиц на нижнем эпидермисе ниже 2,34 мкм, шириной ниже 1,56 мкм, толщиной нижнего эпидермиса более 0,89 мкм.

К среднепоражаемой группе устойчивости (развитие болезни до 50%) относятся сорта смородины черной с длиной устьиц на нижнем эпидермисе в пределах от 2,35 до 2,74 мкм, шириной в пределах от 1,56 до 1,96 мкм, толщиной нижнего эпидермиса в пределах от 0,48 до 0,88 мкм.

К сильнопоражаемой группе устойчивости (развитие болезни более 50%) относятся сорта смородины черной с длиной устьиц на нижнем эпидермисе больше 2,75 мкм, шириной больше 1,97 мкм, толщиной нижнего эпидермиса менее 0,47 мкм.

Таблица – Параметры листа смородины черной как диагностические признаки устойчивости к мучнистой росе

Параметры устьиц нижнего эпидермиса листа, мкм		Толщина нижнего эпидермиса листа, мкм	Группа устойчивости
Длина устьиц, мкм	Ширина устьиц, мкм		
1,50 – 2,24	1,20 – 1,46	0,99 – 1,35	Иммунные (предположительно)
2,25 – 2,34	1,47 – 1,56	0,89 – 0,98	Относительно устойчивые
2,35 – 2,74	1,57 – 1,96	0,48 – 0,88	Среднепоражаемые
2,75 – 3,00	1,97 – 2,05	0,23 – 0,47	Сильнопоражаемые

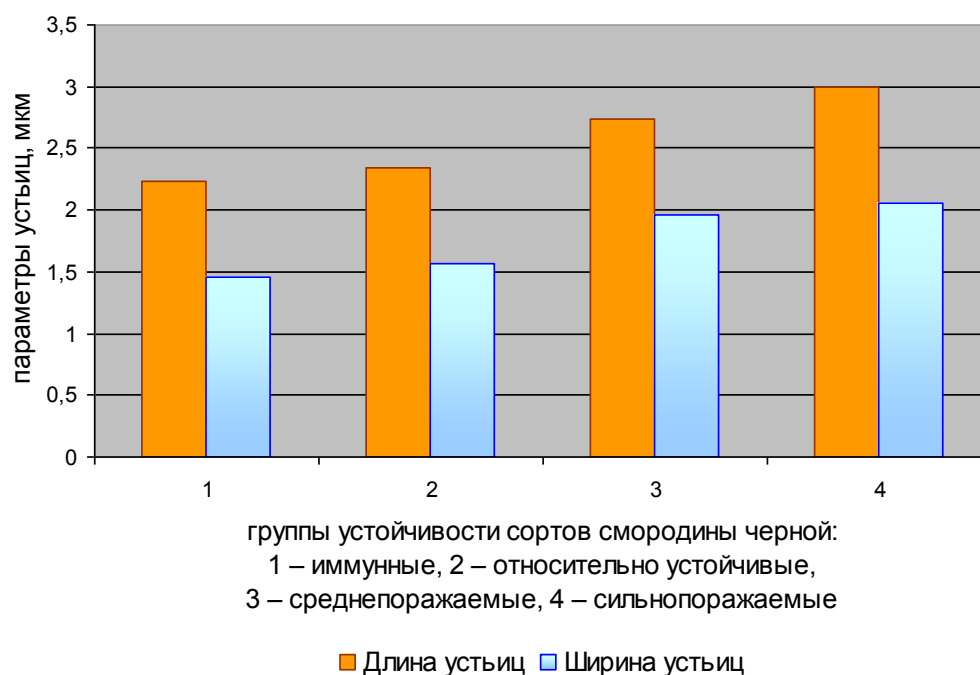


Рисунок 1 – Шкала параметров устьиц листа смородины черной как диагностических признаков устойчивости к мучнистой росе

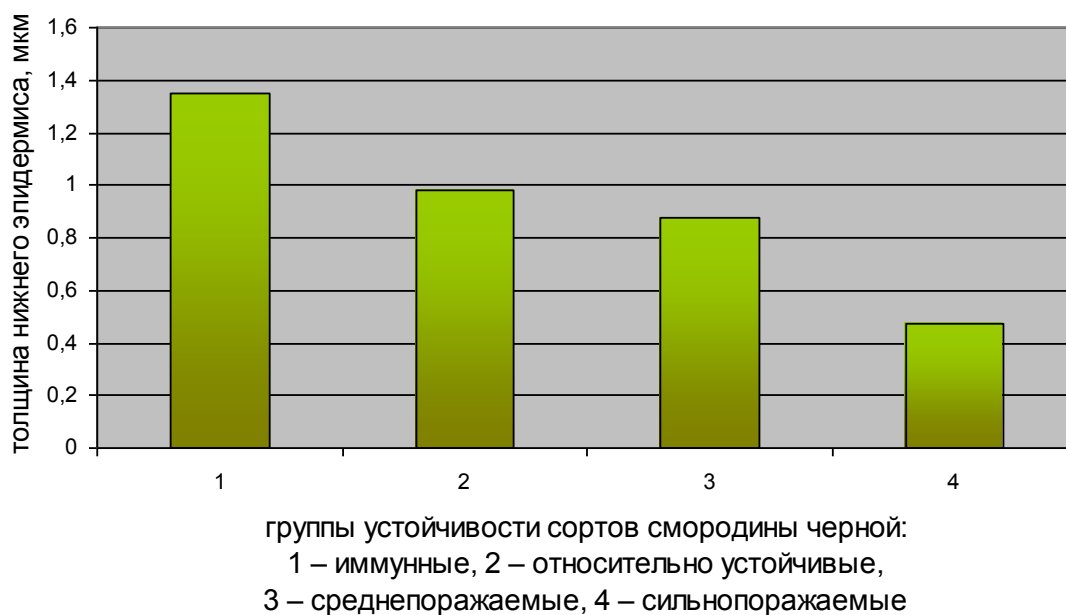


Рисунок 2 – Шкала параметров толщины нижнего эпидермиса листа смородины черной как диагностического признака устойчивости к мучнистой росе

Параметры количественно–анатомических признаков, обеспечивающие устойчивость к проникновению возбудителя: длина замыкающих клеток устьиц 2,24 мкм и меньше, ширина – 1,46 мкм и меньше на нижнем эпидермисе (рисунок 1). Для селекции на устойчивость к мучнистой росе рекомендуем использовать образцы с толщиной нижнего эпидермиса 0,99 мкм и выше (рисунок 2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Деверол, Б.Д. Защитные механизмы растений / Б.Д.Деверол. – Москва: Колос, 1980. –128 с.
2. Чернецкая, А.Г. Метод ранней диагностики сортов черной смородины на устойчивость к мучнистой росе: методические рекомендации / А.Г.Чернецкая. – Мозырь: Изд-во УО МГПУ, 2005. – 22 с.
3. Яковлева, Р.С. Биологические особенности и специализация мучнистой росы на смородине / Р.С.Яковлева // Научные труды ВНИИ садоводства им. И.В.Мичурина – Мичуринск, 1973. – Вып. 18. – С. 308–309.
4. Bonfig, G. Mogliche Wechselwirkungen zwischen Schadorganismenarten in Weizenanbausystemen / G.Bonfig // Mitting Biological Bundesanstalt Land – Forstwirtschaft. – Berlin, 2011. – № 203. – P. 65–66.
5. Dorfelt, H. Die Welt der Pilze / H.Dorfelt; H.Gorner. – Leipzig, 1989. – S. 106.